

**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
INTERNATIONALES BÜRO  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation 5 : A61K 31/20, 31/23, 47/24 A61K 9/107		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 90/0854- (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. August 1990 (09.08.90)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP90/00171		(74) Anwalt: VON KREISLER, Alek; Deichmannhaus am Hauptbahnhof, D-5000 Köln I (DE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 31. Januar 1990 (31.01.90)			
(30) Prioritätsdaten: P 39 03 056.3		2. Februar 1989 (02.02.89)	DE
(71) Ansgeber (für alle Bestimmungstaaten ausser US): B. BRAUN MELSUNGEN AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-3508 Melsungen (DE).		(81) Bestimmungstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.	
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Ansgeber (nur für US): GEORGIEFF, Michael [DE/DE]; Hintere Pfaffenleite 6, D-8551 Kunreuth (DE). NÉHNE, Jörg [DE/DE]; Wesering 7, D-3501 Guxhagen (DE). BÖLL, Michael [DE/DE]; Leipziger Str. 6, D-3508 Melsungen (DE).		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	

BEST AVAILABLE COPY

(54) Title: FAT EMULSION CONTAINING  $\omega$ -3 FATTY ACIDS FOR INTRAPERITONEAL APPLICATION, ITS PRODUCTION AND USE

(54) Bezeichnung: OMEGA-3-FETTSÄUREHALTIGE FETTEMULSION ZUR INTRAPERITONEALEN APPLIKATION,  
IHRER HERSTELLUNG UND ANWENDUNG

**(57) Abstract**

This emulsion contains  $\omega$ -3 fatty acids, in particular eicosapentaenoic acid (EPA), or their physiologically acceptable esters as components of the fatty phase. Altogether, the emulsion contains following:  $\omega$ -3 fatty acids, in particular EPA, or their physiologically acceptable esters in pure form or as components of fish oil or fractions of fish oil; at least one physiologically acceptable emulsifier; optionally, further fats, such as medium-chained triglycerides (MCT); optionally,  $\alpha$ -tocopherol or physiologically acceptable  $\alpha$ -tocopherol esters; optionally, ascorbic acid or physiologically acceptable ascorbic acid esters; and the usual additives and auxiliary substances. The total fat content is comprised between 5 and 20% and the emulsifier content between 5 and 12% (relative to the fat content). Production and use of this emulsion are also described.

## (57) Zusammenfassung

Offenbart wird eine Fett emulsion zur intraperitonealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fett emulsion  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen oder Fischölfraktionen, mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator, gegebenenfalls weiterer Fette wie mittelketige Triglyceride (MCT), gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester, gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei im gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 20 % liegt und der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt, ihre Herstellung und Verwendung.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Malta
AU	Australien	FI	Finnland	MR	Mauritanien
BB	Bahamas	FR	Frankreich	MV	Melawi
BE	Belgien	GA	Gabon	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	IT	Italien	SD	Sudan
BR	Brasilien	JP	Japan	SE	Schweden
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SG	Seragal
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CG	Kongo	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kamerun	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

Omega-3-fettsäurehaltige Fettémulsion zur intraperitonealen Applikation, ihre Herstellung und Anwendung

---

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Fettémulsion zur intraperitonealen Applikation, die Herstellung dieser Fettémulsion sowie deren Anwendung.

Neben den bekannten Zugangswegen per os und per infusionem wird seit mehreren Jahren auch die Bauchhöhle zur Verabreichung von Flüssigkeit und Elektrolyten (August D.A., Sugarbaker P.H. Surgery 97 (1985) 237), Medikamenten (Jenkins J., et al. Surg. Gynecol. Obstet. 154 (1982) 858; Schade D.S., et al. J. Clin. Endocrinol. Metab. 52 (1981) 1165) sowie Nährstoffen (Gilsdorf R.B., et al. J. Am. Coll. Nutr. 4 (1985) 461; Stone M.M., et al. J. Pediatr. Surg. 21 (1986) 267; Klein M.D., et al. J. Pediatr. Surg. 20 (1985) 765) genutzt. Besondere Beachtung hat die Bauchhöhle im Rahmen der Peritonealdialyse gefunden, die eine weltweit anerkannte Methode zur Behandlung der chronischen Urämie darstellt. Hauptsächlich im Rahmen dieser Indikation wurden Verfahren zum geeigneten und teilweise dauerhaften Zu-

gang zur Bauchhöhle entwickelt (Ponce S.P., et al. Perit. Dial. Bull. 2 (1982) 82), und die Physiologie der Bauchhöhle sowie Diffusions- und Absorptionsvorgänge an der Peritonealmembran wurden eingehend erforscht. Die dabei gewonnenen Erfahrungen zeigten, daß die intraperitoneale Zufuhr einen zur Verabreichung pharmakologisch wie nutritiv wirksamer Substanzen gut praktikablen Weg darstellt.

Den zitierten Beispielen ist gemeinsam, daß es bei ihnen um die Erzielung systemischer Wirkungen auf intraperitonealem Weg geht. Daneben werden intraperitoneale Verfahren aber auch zur Behandlung von Erkrankungen der Bauchhöhle selbst eingesetzt, z.B. die Spülung der Bauchhöhle mit Ringer-Glukoselösungen bei Peritonitis. Solche Spülungen erfolgen in der Hauptsache, um infektiöses Material wie Eiter, Darminhalt usw. zu entfernen. Zum Teil gelangen dabei antibiotisch oder antiseptisch wirkende Zusätze zur Anwendung, beispielsweise Polyvidon-Jod, verschiedene Antibiotika oder Taurolin. Ob diese Zusätze über den rein mechanischen Effekt der Spülung hinaus eine günstige Wirkung auf die Behandlungsergebnisse haben, wird jedoch kontrovers beurteilt.

Wegen der besonderen Gefährlichkeit septischer Erkrankungen der Bauchhöhle, die je nach Ursache mit einer hohen Letalität von bis über 70 % verbunden sein können, besteht dringlicher Bedarf an neuen, prophylaktisch und therapeutisch wirksamen Konzepten.

Das Peritoneum mit seiner riesigen Oberfläche stellt ein ausgedehntes Immunsystem dar, das nach Trauma, Operation, Schock, Sepsis usw. nicht ausreichend perfundiert wird und infolgedessen die Ausweitung infektiöser Prozesse begünstigt. Ziel prophylaktischer und/oder therapeutischer Maßnahmen bei den genannten Erkrankungen muß es daher sein, die Immunabwehr und die allgemeine Perfusion des Peritoneums zu steigern, um damit

die Voraussetzungen für eine erfolgreiche chirurgische Intervention und für das Ansprechen auf eine Antibiotikatherapie zu ermöglichen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, die Bauchhöhle in geeigneter Weise mit nutritiv und pharmakologisch wirksamen Substraten zu versorgen.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß sich die oben genannten Aufgaben durch intraperitoneale Verabreichung einer Fettémulsion auf Basis von  $\omega$ -3-Fettsäuren oder -Esteren lösen und die Mortalität septischer Erkrankungen der Bauchhöhle auf diese Weise deutlich vermindern lassen.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Fettémulsion zur intraperitonealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettémulsion

- $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen oder Fischölfraktionen,
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
- gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyceride (MCT),
- gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester,
- gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei
- der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 20 % liegt und
- der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

ω-3-Fettsäuren und deren Ester, insbesondere aber Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester können erfundungsgemäß entweder in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen bzw. Fischölfraktionen verwendet werden.

Physiologisch und pharmakologisch unbedenklich sind die niederen Alkylester bzw. Glyzerinester von ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA. Bevorzugt werden die Ethylester und Triacylglycerole.

Geeignete Fischöle sind beispielsweise solche, wie sie technisch in bedeutendem Umfang aus Kaltwasserfischen gewonnen werden. Bevorzugt sind hochgereinigte Fischölkonzentrate oder Fischölfraktionen, die beispielsweise aus Makrele, Sardine, Hering oder Lachs gewonnen werden, wobei diese einen EPA-Gehalt von vorzugsweise mindestens 25 % (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) besitzen.

Als Eventualkomponente "weitere Fette" werden erfundungsgemäß mittelkettige Triglyzeride verwendet, die zu mindestens 90 % aus Glyzeriden der Caprylsäure und Caprinsäure bestehen. Der Gehalt dieser Komponenten liegt (bezogen auf den lipophilen Anteil der Emulsion) bei 0 bis 90 %.

Als Emulgatoren werden physiologisch unbedenkliche Emulgatoren wie Phospholipide tierischen und pflanzlichen Ursprungs verwendet, insbesondere solche aus Hühnereigelb oder Soja.

Der Emulgatorgehalt beträgt 5 bis 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) und der gesamte Fettgehalt der Fettemulsion beträgt zwischen 5 und 20 %.

Als Emulgierhilfsstoffe können weiterhin Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt in einer Konzentration von 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cho-

lesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) verwendet werden.

Die Fettémulsion weist vorzugsweise einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 auf.

Weiterhin kann der Fettémulsion gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder  $\alpha$ -Tocopherol-Ester in einer Menge von 0 bis 100 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden, insbesondere wenn  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre Ester in Reinform verwendet werden.

Schließlich können der Fettémulsion gegebenenfalls außerdem Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäure-Ester in einer Menge von 0 bis 500 mg, bezogen auf 100 g Fett, zugegeben werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur Herstellung einer Fettémulsion zur intraperitonealen Applikation, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man die vorstehend beschriebenen Komponenten zunächst dispergiert und daraufhin homogenisiert.

Die vorliegende Erfindung betrifft schließlich eine Fettémulsion zur intraperitonealen Anwendung nach Traumen und nach Operationen im Abdominalbereich, bei Sepsis, Peritonitis und hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis, bei intraabdominalen Spülbehandlungen sowie Spüldrainagen. Weiterhin verwendet man die Fettémulsion zur intraperitonealen Ernährung. Man setzt diese Fettémulsion insbesondere bei vorstehend genannten Indikationen zur Prophylaxe eines eventuellen Nierenversagens sowie therapeutisch zur Verbesserung der Splanchnikusperfusion ein.

In den im folgenden näher beschriebenen Untersuchungen zeigte sich, daß Ratten, die vor bzw. nach einer experimentell herbeigeführten Peritonitis mit Eikosapentaensäureethylester auf intraperitonealem Weg behandelt worden waren, eine signifikant höhere Überlebensrate aufwiesen als Kontrolltiere in zwei Gruppen, von denen die eine konventionelle Fettsäureester (Intralipid<sup>R</sup> = Ester von gesättigten Fettsäuren und  $\omega$ -6-Fettsäuren), die andere Kochsalzlösung (als Plazebo) erhalten hatte. In der Eikosapentaensäureethylester-Gruppe wurden signifikant niedrigere Konzentrationen an TXB<sub>2</sub>, einem stabilen Metaboliten des Thromboxans TXA<sub>2</sub>, beobachtet. TXA<sub>2</sub> ist ein außerordentlich potenter Mediator, der vor allem im Postaggressions- und septischen Stoffwechsel durch seine stark proaggregatorischen und vasokonstriktorischen Eigenschaften unerwünschte Wirkungen entfaltet. So trägt er entscheidend zu der ungenügenden Perfusion des Splanchnikusgebietes bei Sepsis bei. Die verminderte Konzentration von TXB<sub>2</sub> in der Eikosapentaensäureethylester-Gruppe kann als Beweis für eine Hemmung der Freisetzung und des oxidativen Stoffwechsels von Arachidonsäure, der Präkursorfettsäure für TXA<sub>2</sub>, durch die Zufuhr kompetitiv wirkender  $\omega$ -3-Fettsäuren wie der Eikosapentansäure aufgefaßt werden. Auf dem gleichen Wege können durch  $\omega$ -3-Fettsäuren auch stark inflammatorische (LTB<sub>4</sub>) und immunsuppressive (PGE<sub>2</sub>) Eicosanoide antagonisiert werden, die ebenfalls aus der Arachidonsäure entstehen, und deren Nachweise im Rahmen der beschriebenen Untersuchungen aus technischen Gründen nicht möglich war. So wie die reduzierte Bildung von TXA<sub>2</sub> zu einer verbesserten Splanchnikusperfusion führt, kann die Hemmung von PGE<sub>2</sub> und LTB<sub>4</sub> eine Steigerung der Immunkompetenz bewirken und im Sinne der gestellten Aufgabe zu einer Prophylaxe bzw. Therapie der Peritonitis und ihrer deletären Auswirkungen auf die Funktion vital wichtiger Organsysteme beitragen. Die neben den biochemischen Veränderungen beobachtete deutliche Verbesserung von Überlebenszeit und Überlebensrate in der Eikospentaensäureethylester-Gruppe be-

legt, daß die intraperitoneale Verabreichung von  $\omega$ -3-Fettsäuren in dieser Weise wirksam ist.

Die Beobachtung, daß unerwünschte Wirkungen von Eikosanoiden, die sich aus  $\omega$ -6-Fettsäuren ableiten, durch  $\omega$ -3-Fettsäuren und den aus ihnen entstehenden Eikosanoiden antagonisiert werden können, ist nicht neu und hat bereits zu einer Reihe von Patentanmeldungen geführt.

Das US-Patent 4 526 902 beschreibt Mischungen aus 25 bis 75 Gew.-% Eikosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure und einer  $\omega$ -6-Fettsäure, die enteral als Bestandteil von Pharmazeutika oder fetthaltigen Nahrungsmitteln wie Butter oder ähnlichem verwendet werden.

In der EP 0 120 169 B1 sind synthetische Triglyzeride beschrieben, die am mittleren C des Glyzerinmoleküls eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, vorzugsweise Eikosapentaensäure oder Docosahexaensäure, besitzen können. Die so erzeugten Glyzeride können als Nahrungsmittel, Nahrungsergänzungsmittel oder als Arzneimittel für die therapeutische Ernährung verwendet werden.

Die JP-OS Sho-58-230918 beschreibt eine Eikosapentaensäure enthaltende Emulsion zur oralen und nicht-oralen Verwendung. Diese enthält 1 bis 40 w/v-% Eikosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure bzw. vorzugsweise deren Methyl- oder Ethylester, 1 bis 30 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Sojaöl, 0,01 bis 30 w/v-%  $\alpha$ -Tocopherol, und als Emulgatoren 0,1 bis 5 w/v-% eines Phospholipids, vorzugsweise aus Eigelb und/oder Soja, sowie 0,1 bis 10 w/v-% eines nichtionischen synthetischen Emulgators.

Die DE-OS 34 09 793 offenbart eine flüssige Emulsion zur Transfusion mit antithrombotischer und antiarteriosklerotischer Wir-

kung, die zur Nahrungsergänzung dienen kann. Sie besteht neben Wasser zu 5 bis 20 w/v-% aus Eikosapentaensäure, Docosahexaensäure oder deren Ester und sie ist vorzugsweise ein gereinigtes Fischöl, wie Sardinenöl. Weiterhin enthält sie 1 bis 19 w/v-% eines Pflanzenöls, vorzugsweise Soja- und/ oder Safloröl, sowie 1 bis 2 w/v-% eines Phospholipidemulgators, vorzugsweise aus Eigelb oder Soja. Dieser Fettemulsion kann als Antioxidans  $\alpha$ -Tocopherol zugefügt werden.

WO 87/02247 beschreibt Fettemulsionen, enthaltend Fischöle mit hohem Anteil an  $\omega$ -3-Fettsäureestern, die zur intravenösen Anwendung bei der Behandlung thrombotischer Erkrankungen vorgesehen sind.

In der EP 0 271 909 wird die Herstellung synthetischer Triglyzeride beschrieben, die als Fettsäuren solche mit einer Kettenlänge von 6 bis 12 C-Atomen, 14 bis 18 C-Atomen (vorzugsweise Linolsäure) sowie 20 bis 22 C-Atomen (vorzugsweise Eikosapentaensäure) in variablen Kombinationen und Relationen enthalten.

SE 8705122-A0 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung einer intravenösen Fettemulsion, die  $\omega$ -3-Fettsäuren als Bestandteil des Emulgators enthält.

Die DE-OS 37 34 147 betrifft eine isotone Fettemulsion zur parenteralen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA) oder ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Fettemulsion

- diese  $\omega$ -3-Fettsäuren oder Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen,
- mittelkettige Triglyzeride (MCT),
- mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,

- gegebenenfalls mindestens ein  $\omega$ -6-Fettsäuren lieferndes Pflanzenöl,
- $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche  $\alpha$ -Tocopherolester, sowie
- übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthalt, wobei
  - das Verhältnis von EPA oder ihren physiologisch unbedenklichen Estern zu MCT zwischen 1 : 9 und 3 : 5 liegt,
  - der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 30 % liegt,
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt und
  - der Gehalt an  $\omega$ -6-Fettsäuren liefernden Pflanzenölen zwischen 0 und 30 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

In diesen Schriften wird die systemische, orale oder parenterale Anwendung von  $\omega$ -3-Fettsäuren vorgeschlagen, um antithrombotische und antiarteriosklerotische Wirkungen zu erzielen bzw. um über eine Modulation des Eikosanoidwirkspektrums das Stoffwechselgeschehen bei Trauma oder Sepsis zu beeinflussen.

Neu an der vorliegenden Erfindung ist die in dieser Weise nicht vorhersehbare Beobachtung, daß  $\omega$ -3-Fettsäuren auch intraperitoneal angewendet werden können, und daß sie so binnen kurzer Zeit eine besonders intensive prophylaktische und therapeutische Wirkung bei der Behandlung septischer Erkrankungen der Bauchhöhle entfalten.

Die Modulation der Eikosanoidwirkungen durch intraperitoneal verabreichte  $\omega$ -3-Fettsäuren kann gegebenenfalls auch als Adjuvansbehandlung zur Antibiotikaprophylaxe oder Antibiotikatherapie angesehen werden. Mit der bisher geübten chirurgischen Praxis der Peritoneallavage ist die intraperitoneale Anwendung von  $\omega$ -3-Fettsäuren hervorragend zu kombinieren; sie stellt so

- 10 -

eine pharmakologische Ergänzung zu dem rein mechanischen Effekt der Spülung dar. Im Vergleich mit der systemischen Zufuhr lassen sich bei intraperitonealer Anwendung von  $\omega$ -3-Fettsäuren die wirksame Dosis vermindern und weniger erwünschte systemische Effekte vermeiden. Indem sie unmittelbar an den Ort des Krankheitsgeschehens, den septischen Herd, gebracht werden, erlauben intraperitoneal verabreichte  $\omega$ -3-Fettsäuren eine exaktere und enger am Therapieerfolg orientierte Dosierung als bei der Zufuhr auf anderen Wegen.

Die Wirkung der erfindungsgemäßen Verabreichung einer  $\omega$ -3-fettsäurenhaltigen Fettulsion zeigen die unten geschilderten Experimente. Weiterhin sind im folgenden Herstellungsbeispiele wiedergegeben.

Experiment 1:

36 Sprague-Dawley-Ratten wurden in Stoffwechselkäfigen bei einer Raumtemperatur von 22 °C, einer Luftfeuchtigkeit von 70 % sowie bei Fütterung mit Standardfutter gehalten und drei Tage auf die geplanten Untersuchungen vorbereitet. Nach der Eingewöhnungsphase wurden die Tiere in drei Gruppen zu jeweils 12 Ratten randomisiert und erhielten an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils eine der nachstehenden Fettulsionen (oder Kochsalzlösung in der Kontrollgruppe) als Instillation in die Bauchhöhle (in den linken unteren Quadranten des Abdomens):

Gruppe I: (Plazebogruppe) physiologische Kochsalzlösung (30 ml/kg KG und Tag)

Gruppe II: 10 %ige Eikosapentaensäureethylester-Emulsion gemäß Herstellungsbeispiel 5 (30 ml/kg KG und Tag)

Gruppe III: 10 % Intralipid<sup>R</sup>;

Zusammensetzung: 100 g fraktioniertes Sojaöl, 12 g fraktioniertes Eilecithin und

22,5 g Glycerin, mit destilliertem  
Wasser auf 1000 ml ergänzt;  
(30 ml/kg KG und Tag).

24 h nach der letzten Injektion wurde bei den Tieren in Barbituratanaesthesia das Abdomen eröffnet, das Zökum ligiert, durch eine 18-Gauge-Nadel perforiert und auf diese Weise eine Peritonitis herbeigeführt (WICHTERMANN et al., J. Surg. Res. 29 (1980) 189-201). Bei der Perforation wurde auf Erhalt der Darmkontinuität geachtet. 16 h nach Zökaligation und Zökalperforation wurden die Konzentrationen ausgewählter Prostaglandinmetabolite im Serum der Tiere sowie im weiteren Verlauf die Überlebensraten bestimmt.

Ergebnisse:

	24 h	48 h	72 h
Gruppe I (Kochsalz)	9	6	4
Gruppe II (EPA-Ethylester)	12	10	8
Gruppe III (Intralipid <sup>R</sup> )	7	3	1

Tab. 1) Zahl der Tiere (von jeweils n = 12 zu Versuchsbeginn), die zum angegebenen Zeitpunkt nach Zökaligation und Zökalperforation noch lebten.

- 12 -

	TXB <sub>2</sub> (ng/ml)
Gruppe I (Kochsalz)	$15,7 \pm 3,8$
Gruppe II (EPA-Ethylester)	$6,6 \pm 2,8^*$
Gruppe III (Intralipid <sup>R</sup> )	$23,2 \pm 4,1$

\* p < 0,01 vs. Gr. I und Gr. III

Tab. 2) Konzentration von TXB<sub>2</sub> im Serum 16 h nach Zoekumligation und Zoekumperforation.

Experiment 2:

In einem weiteren Experiment wurde überprüft, ob die erfundungsgemäße Fettémulsion auch dann noch wirkt, wenn sie erst nach Zoekumligation und Zoekumperforation verabreicht wird, also nach experimenteller Induzierung der Peritonitis. Für diese Untersuchung wurden ebenfalls Sprague-Dawley-Ratten herangezogen (n = 50), die nach Zoekumligation und Zoekumperforation wie in Experiment 1 näher beschrieben in 2 Gruppen zu 25 Tieren randomisiert wurden. Tiere der Gruppe I erhielten insgesamt 15 mg/kg KG einer 20 %igen handelsüblichen Fettémulsion (Intralipid<sup>R</sup>), und Tiere der Gruppe II erhielten 15 ml/kg KG einer 20 %igen Emulsion aus hochgereinigtem Fischöl gemäß dem Herstellungsbeispiel 4 als einmalige Instillation in die Bauchhöhle.

Ergebnisse:

	24 h	48 h	72 h
Gruppe I (Intralipid <sup>R</sup> )	18	6	0
Gruppe II (Fischöl)	22	16	11

Tab. 3) Überlebensrate der Tiere 24, 48 und 72 h nach Induzierung der Sepsis.

Neben signifikant längerer Überlebenszeit der Tiere mit der Emulsion aus hochgereinigtem Fischöl wurden in dieser Gruppe auch signifikant geringere Konzentrationen an TXB<sub>2</sub> im Serum gemessen, ähnlich wie in Experiment 1.

Besonders hervorzuheben ist, daß die Urinproduktion der Tiere mit der Emulsion aus hochgereinigtem Fischöl nicht vermindert war, wie in der Gruppe mit Intralipid<sup>R</sup> (s. Tabelle 4). Dieser Befund zeigt, daß die erfindungsgemäße Behandlung mit ω-3-Fettsäuren auch eine Prophylaxe des Nierenversagens nach Traumen bzw. infolge einer Sepsis darstellt.

	0-24 h	24-48 h	48-72 h
Gruppe I (Intralipid <sup>R</sup> )	16±9	12±6	
Gruppe II (Fischöl)	34±11 <sup>1)</sup>	27±9 <sup>1)</sup>	21±11

1)<sub>p</sub> < 0,001 vs. Gr.I

Tab. 4) Mittlere Urinproduktionsrate/Ratte in (ml/24 h).

#### Herstellungsbeispiele

##### Beispiel 1:

Eine Mischung aus 1000 g hochgereinigtem Fischöl, 1000 g MCT, 2 g Cholesterinazetat, 120 g gereinigten Eiphospholipiden und 2 g Natriumstearat wird mittels eines Ultra-Turrax fein dispergiert. Mit Aqua ad injectabilia, das 250 g Glyzerol und 5 mmol Natriumhydroxid enthält, wird unter Rühren auf 10 l aufgefüllte. Diese grobe Voremulsion wird in einem Hochdruckhomogenisator bei einem Druck von 392 bar (400 kg/cm<sup>2</sup>) homogenisiert. Nach Abfüllung in Glasflaschen geeigneter Qualität wird nach allgemein bekanntem Verfahren hitzesterilisiert. Die Teilchen der sterilen und pyrogenfreien Emulsion sind kleiner als 1 µm.

Beispiel 2:

Eine Mischung aus 25 g Eikosapentaensäureethylester, 75 g MCT, 12 g gereinigten Eiphospholipiden, 50 mg  $\alpha$ -Tocopherol und 0,2 g Natriumstearat wird, wie unter Beispiel 1 beschrieben, dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad injectabilia (enthält 25 g Glyzerol) auf 1000 ml homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionstropfen sind kleiner als 1  $\mu\text{m}$ .

Beispiel 3:

Eine Mischung aus 50 g Eikosapentaensäureethylester, 9 g gereinigten Eiphospholipiden, 50 mg  $\alpha$ -Tocopherol, 100 mg Ascorbylpalmitat und 0,5 g Natriumstearat wird wie unter Beispiel 1 beschrieben dispergiert. Nach Auffüllen auf 1000 ml mit Aqua ad injectabilia, das 25 g Glyzerol enthält, wird homogenisiert, abgefüllt und sterilisiert. Die Emulsionstropfen sind kleiner als 1  $\mu\text{m}$ .

Beispiel 4:

Eine Mischung aus 2000 g hochgereinigtem Fischöl, 150 g gereinigten Eiphospholipiden, 500 mg  $\alpha$ -Tocopherol, 2 g Ascorbylpalmitat sowie 3 g Natriumstearat wird wie unter Beispiel 1 beschrieben dispergiert und nach Auffüllen mit Aqua ad injectabilia (enthält 250 g Glyzerol) auf 10 l homogenisiert. Nach Einstellen des pH-Wertes mit Natriumhydroxid auf pH 8,0 bis 8,5 wird abgefüllt und sterilisiert. Die resultierenden Emulsionstropfen sind kleiner als 1  $\mu\text{m}$ .

Beispiel 5:

Eine Mischung aus 100 g Eikosapentaensäureethylester, 12 g gereinigten Eiphospholipiden, 50 mg  $\alpha$ -Tocopherol, 200 mg As-

corbylpalmitat und 0,5 g Natriumstearat wird dispergiert wie unter Beispiel 1 beschrieben. Anschließend wird mit Aqua ad injectabilia, das 25 g Glyzerol enthält, auf 1000 ml aufgefüllt, homogenisiert, in Glasflaschen geeigneter Qualität abgefüllt und sterilisiert. Die Tropfen der so hergestellten Fettémulsion sind kleiner als 1  $\mu\text{m}$ .

Patentansprüche

1. Fettémulsion zur intraperitonealen Applikation, enthaltend ω-3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettémulsion
  - ω-3-Fettsäuren, insbesondere EPA, bzw. ihre physiologisch unbedenklichen Ester in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen oder Fischölfraktionen,
  - mindestens einen physiologisch unbedenklichen Emulgator,
  - gegebenenfalls weitere Fette wie mittelkettige Triglyceride (MCT),
  - gegebenenfalls α-Tocopherol oder physiologisch unbedenkliche α-Tocopherolester,
  - gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenkliche Ascorbinsäureester sowie
  - übliche Zusatz- und Hilfsstoffe enthält, wobei
  - der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 20 % liegt und
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.
2. Fettémulsion gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß dieses Fischöl erhältlich ist durch Verarbeitung von Kaltwasseraufischen, beispielsweise von Makrele, Sardine, Hering oder Lachs.
3. Fettémulsion gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Fischöl ein hochgereinigtes Fischölkonzentrat mit einem Gehalt an EPA von vorzugsweise mindestens 25 % (bezogen auf die Fettsäuremethylester des Fischölkonzentrats) ist.

4. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die als Eventual-Fettkomponenten eingesetzten mittelkettigen Triglyceride zu mindestens 90 % aus Glyzeriden der Caprylsäure ( $C_8$ ) und Caprinsäure ( $C_{10}$ ) bestehen und der Gehalt dieser Komponente 0 bis 90 % (bezogen auf den lipophilen Anteil) beträgt.

5. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der eingesetzte Emulgator ein Phospholipid tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, insbesondere aus Hühnereigelb oder Sojabohne, ist.

6. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie weitere Emulgierhilfsstoffe wie Natriumsalze langkettiger Fettsäuren (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) und/oder Cholesterin oder Cholesterinester (bevorzugt 0,005 bis 0,1 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtemulsion) enthält.

7. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 100 mg  $\alpha$ -Tocopherol oder  $\alpha$ -Tocopherolester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.

8. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie 0 bis 500 mg Ascorbinsäure oder Ascorbinsäureester, bezogen auf 100 g Fett, enthält.

9. Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen pH-Wert im Bereich von 6 bis 9 aufweist.

10. Fett emulsionen gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur intraperitonealen Anwendung nach Traumen und nach Operationen im Abdominalbereich.

11. Fett emulsionen gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur intraperitonealen Anwendung bei Sepsis, Peritonitis und hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis.
12. Fett emulsionen nach Ansprüchen 1 bis 9 zur intraperitonealen Anwendung im Rahmen intraabdomineller Spülbehandlungen sowie Spül drainagen.
13. Fett emulsionen gemäß Ansprüchen 1 bis 9 zur intraperitonealen Ernährung.
14. Verwendung der Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 bei den medizinischen Indikationen gemäß Ansprüchen 10 bis 13 als Prophylaxe des Nierenversagens nach operativen Eingriffen sowie bei Sepsis und Peritonitis.
15. Verwendung der Fett emulsion gemäß Ansprüchen 1 bis 9 bei den medizinischen Indikationen gemäß Ansprüchen 10 bis 13 zur Therapie zwecks Verbesserung der Splanchnikusperfusion nach operativen Eingriffen und Traumen sowie bei Sepsis.
16. Verfahren zur Herstellung einer Fett emulsion zur intraperitonealen Applikation, enthaltend  $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere Eikosapentaensäure (EPA), und ihre physiologisch unbedenklichen Ester als Bestandteile der Fettphase, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man diese Fett emulsion aus
  - $\omega$ -3-Fettsäuren, insbesondere EPA, oder ihren physiologisch unbedenklichen Estern in Reinform oder als Bestandteil von Fischölen oder Fischölfraktionen,
  - mindestens einem physiologisch unbedenklichen Emulgator,
  - gegebenenfalls weiteren Fetten wie mittelkettigen Triglyceriden (MCT),
  - gegebenenfalls  $\alpha$ -Tocopherol oder physiologisch unbedenklichen  $\alpha$ -Tocopherolestern,

- gegebenenfalls Ascorbinsäure oder physiologisch unbedenklichen Ascorbinsäureestern sowie
  - üblichen Zusatz- und Hilfsstoffen
- durch Dispergieren und darauffolgendes Homogenisieren erhält,  
wobei
- der gesamte Fettgehalt zwischen 5 und 20 % liegt und
  - der Emulgatorgehalt zwischen 5 und 12 % (bezogen auf den Fettgehalt) liegt.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/EP 90/00171

## I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) \*

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl. 5 A 61 K 31/20, 31/23, 47/24, 9/107

## II. FIELDS SEARCHED

Classification System	Int.Cl. 5	Minimum Documentation Searched ?	
		Classification Symbols	
	A 61 K		
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched *			

## III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT\*

Category *	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
X	EP, A, 0298293 (FRESENIUS) 11 January 1989 see claims 1,10-11,20; page 3, lines 28-30 and 40-49; page 5, lines 1-8 -----	1-3,5-6,13, 16
P,X	EP, A, 0311091 (B. BRAUN MELSUNGEN) 12 April 1989 see claims 1-13, 21-24 (cited in the application) -----	1-16

\* Special categories of cited documents:<sup>10</sup>

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority (claims), or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date which may define a technical feature in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention can be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

## IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search

23 April 1990 (23.04.90)

Date of Mailing of this International Search Report

29 May 1990 (29.05.90)

International Searching Authority

EUROPEAN PATENT OFFICE

Signature of Authorized Officer

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

EP 9000171  
SA 33749

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 21/05/90.  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0298293	11-01-89	DE-A-	3722540	19-01-89
EP-A- 0311091	12-04-89	DE-A-	3734147	20-04-89

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 90/00171

<b>I. KLASSEKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS</b> (bei mehreren Klassifikationsymbolen sind alle anzugeben) <sup>6</sup>	
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC	
Int.CI 5 A 61 K 31/20, 31/23, 47/24, 9/107	
<b>II. RECHERCHIERTE SACHGEBiete</b>	
Klassifikationssystem	Recherchierte Mindestprüfstoff/ Klassifikationssymbole
Int.CI 5	A 61 K
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen <sup>8</sup>	

<b>III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN<sup>9</sup></b>		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung <sup>11</sup> , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile <sup>12</sup>	Betr. Anspruch
X	EP, A, 0298293 (FRESENIUS) 11. Januar 1989 siehe Ansprüche 1,10-11,20; Seite 3, Zeilen 28-30 und 40-49; Seite 5, Zeilen 1-8	1-3,5-6, 16
P,X	EP, A, 0311091 (B. BRAUN MELSUNGEN) 12. April 1989 siehe Ansprüche 1-13,21-24 (in der Anmeldung erwähnt)	1-1:

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen<sup>10</sup>:
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die Veröffentlichung kann nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Art in Verbindung gebracht wird und diese Veröffentlichungen einen Fachmann nahelegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

<b>IV. BESCHEINIGUNG</b>	
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Abtendedatum des internationalen Recherchenberichts
23. April 1990	29.05.90
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevoilsmächtigten Bodienstes
Europäisches Patentamt	M. Peis

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 9000171  
SA 33749

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilie der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 21/05/90.  
Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A- 0298293	11-01-89	DE-A- 3722540	19-01-89
EP-A- 0311091	12-04-89	DE-A- 3734147	20-04-89

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)